京都大学	博士（医学）	氏　名	髙木　弓枝
論文題目	An informative set of SSLP markers and genomic profiles in the rat MHC, the *RT1* complex (ラット主要組織適合遺伝子複合体RT1領域における有用なSSLPマーカーセットの開発とゲノムプロファイル)		

（論文内容の要旨）

ラットの MHC である RT1 は第 20 染色体上 (20p12) の約 4-Mb にわたって存在し、T 細胞レセプターにペプチドを提示する MHC クラスⅠ、
クラスⅡ糖蛋白をコードする遺伝子に加えて、200 以上の遺伝子が存在し、高い遺伝子密度と多様性を有する領域である。ヒトと同様に RT1 領域内には
Ⅰ型糖尿病や実験的自己免疫性脳脊髄炎、実験的関節炎等の多くの疾患感受性遺伝子の存在が報告されており、この領域の遺伝子解析が精力的に行われてきた。

近年、遺伝解析の新たなツールとしてSingle Nucleotide Polymorphisms (SNPs) が用いられているが、RT1 領域内において有用な SNPs はまだ少なく、詳細な RT1 領域の解析には不十分である。ラットでは、高精度で多型性の高い Simple Sequence Length Polymorphism (SSLP) がなお遺伝解析の重要なツールであることから、本研究では RT1 領域解析のための有用な SSLP マーカーセットの開発とゲノムプロファイルの作成を試みた。

RT1 領域内に 57 個の新規 SSLP マーカーを開発し、10 個の既存のSSLP マーカーと合わせて 67 個のマーカーを平均 52.5±39.4 (kb) の密度で設定した。67 個の SSLP マーカーを用い、ナショナルバイオリソース
プロジェクト「ラット」に寄託されている 67 系統の近交系ラットについてジェノタイピングを実施した結果、アレル数は 2 から 22、平均アレル数は 8.04±3.44 であった。67 系統の平均多型率は 71±23 % と高い多型性を示した。従って、RT1 領域内に高密度で多型性の高い SSLP マーカーセットを開発することができた。興味深いことに、67 マーカーのうち、9 マーカーにおいては 1 系統以上で PCR 産物が検出されず、さらには、BN/SsNSlc 以外の全ての系統で PCR 産物が検出しないマーカーが、1 つ以上存在した。これらの系統間におけるゲノム配列の相違は塩基配列の欠失、挿入、あるいは重複が関与するゲノム再編成に起因するのではないかと推察した。また、系統樹解析を基に 28 個の SSLP マーカーハプロタイプを同定した。現在、 RT1 領域は血清学的手法により同定されているが、これらは *RT1A*、*RT1B/D*遺伝子でコードされた RT1 分子の極めて限られた領域のみを反映している。従って今回提唱した 67 系統の SSLP ハプロタイプは RT1 領域全体を俯瞰するのにより有用な手段であると考える。さらに PHASE 解析の結果、
RT1 領域は 2 箇所で組換えを生じる例が多く、*D20Rat47* - *D20Yum29* (1.19-Mb)、*D20Yum84* - *D20Yum41* (496-kb)、*D20Yum42*- *D20Yum82* (1.72-Mb) の 3 領域から構成されていることが明らかとなった。*D20Yum41*と*D20Yum42* 領域間の組換えは LINE 配列が関与するのではないかと推測した。本研究から RT1 領域のゲノム配列の多様性が確認された。RT1 領域の詳細な解析には、ゲノム塩基配列がすでに決定された BN 以外の系統についても、そのゲノム情報の整備が必要であることが示唆された。

本研究で開発した SSLP マーカーセットとそのゲノムプロファイルは RT1 領域をより明確にし、疾患感受性遺伝子の同定や移植研究において有用な情報を提供する。

（論文審査の結果の要旨）

ラットの MHC である RT1 は第 20 染色体上の約 4-Mb にわたって存在し、MHC クラスⅠ、クラスⅡ糖蛋白をコードする遺伝子に加えて、200 以上の遺伝子が存在し、高い遺伝子密度と多様性を有する領域である。　ヒトと同様に RT1 領域内にはⅠ型糖尿病や実験的自己免疫性脳脊髄炎、関節炎等の多くの疾患感受性遺伝子の存在が報告されているが、RT1 領域内における有用なマーカーはまだ少なく、詳細な RT1 領域の解析には更なるマーカーの開発が必要である。

ラットでは、高精度で多型性の高い Simple Sequence Length Polymorphism (SSLP) がなお遺伝解析の重要なツールであることから、申請者は RT1 領域解析のための有用な 67 個の SSLP マーカーセットを開発し、67 系統のゲノムプロファイルと 28 個の SSLP マーカーハプロタイプを同定した。本研究から RT1 領域のゲノム配列の多様性が確認され、RT1 領域の詳細な解析には、ゲノム塩基配列が既に決定された BN 系統以外の系統についても、ゲノム情報の整備の必要性が示唆された。また、従来の血清学的ハプロタイプに比べ、このSSLP マーカーハプロタイプは RT1 領域全体を俯瞰しており、本研究で開発した SSLP マーカーセットとそのゲノムプロファイルは RT1 領域をより明確に示し、疾患感受性遺伝子の同定や移植研究において有用な情報を提供する。

従って、本論文は博士（医学）の学位論文として価値あるものと認める。なお、本学位申請者は平成 21 年 4 月 6 日実施の論文内容とそれに関連した研究分野並びに学識確認のための試問を受け、合格と認められたものである。

要旨公開可能日：　　年　　月　　日　以降